- For more records, click the Records link at page end.
- To change the format of selected records, select format and click Display Selected.
- To print/save clean copies of selected records from browser click Print/Save Selected.
- To have records sent as hardcopy or via email, click Send Results.

√ Select All X Clear Selections Print/Save Selected

5end Results

Format Display Selected Free

1. 7 1/5/1 DIALOG(R)File 352:Derwent WPI (c) 2005 Thomson Derwent. All rts. reserv.

004231526

WPI Acc No: 1985-058405/198510

XRAM Acc No: C85-025442

Green tea catechin(s) prepn. - by extracting green tea

leaves with hot water aq. (m) ethanol or acetone, washing with chloroform,

dissolving in organic solvent etc.

Patent Assignee: MITSUI NORIN KK (MITS-N)

Number of Countries: 002 Number of Patents: 003

Patent Family:

Applicat No Kind Date Patent No. Kind Date JP 60013780 19850124 JP 83120963 19830705 198510 B Α Α 19860923 US 84624943 19840627 198641 US 4613672 Α Α JP 90022755 В 19900521 JP 83120963 Α 19830705 Priority Applications (No Type Date): JP 83120963 A 19830705

Patent Details:

Patent No Kind Lan Pg Main IPC Filing Notes

JP 60013780 15 Α

Abstract (Basic): JP 60013780 A

In the prepn. of tea catechins of formula (I), green tea leaves are extracted with a hot water or 40-75% methanol ag. soln., 40-75% ethanol ag. soln. or 30-80% acetone ag. soln.. The obtd. extract is washed with chloroform and the washed extract is dissolved in an organic solvent. The organic solvent is distilled out, and the conc. extract component is subjected to high speed liquid chromatography using a reverse-phase partition column with a developer of acetone/tetrahydrofuran/water (0-25:0-35:65-85, vol%), whereby each of (-) epicatechin, (-) epigallocatechin, (-) epicatechin-gallate and (-) epigallocatechin-gallate is isolated from one another. In (I) R1 is H or OH; R2 is H or (11).

USE/ADVANTAGE - Economic mass-prodn. is possible. The isolated catechins have strong anti-idative effect, and may be used as additives for foods, cosmetics, etc...

Title Terms: GREEN; TEA; CATECHIN: PREPARATION; EXTRACT; GREEN; TEA; LEAF; HOT; WATER; AQUEOUS; ETHANOL; ACETONE; WASHING; CHLOROFORM; DISSOLVE;

ORGANIC: SOLVENT

Index Terms/Additional Words: METHANOL

Derwent Class: D13: D21: E13

International Patent Class (Additional): A23F-003/18; A61K-035/78;

CO7D-311/32 File Segment: CPI

Derwent WPI (Dialog® File 352): (c) 2005 Thomson Derwent. All rights reserved.

Format ✓ Select All Display Selected Free

© 2005 Dialog, a Thomson business

(2)

特公 平 2-22755

3

行なつてエピカテキン、エピガロカテキン、エピ カテキンガレートおよびエピガロカテキンガレー トの各成分を分離して得ることを特徴とする一般 式

(ただし、RiはHまたはOH、RiはHまたは

で表わされる茶カテキン類の製造方法を提供する ものである。

本発明の原料である茶葉としては各種形態のも のがあり、たとえば茶生薬、不発酵茶、半発酵 20 (以下、EGCと略す。) 茶、煎茶、インスタント緑茶などを挙げることが できる。

次に、抽出に用いる熱湯としては80°C以上の温 度のものが好ましい。また、メタノール水溶液な どの含水有機溶剤については上記した機度のもの 25 を用いることが必要であり、この範囲外の課度の ものでは抽出効率が低下する。なお、他の有機溶 剤を使用した場合も同様に良好な結果が得られな い。抽出は茶カテキン類を含有する成分である茶 タンニンが十分に抽出できる条件の下に行なえば 30 よく、通常は5分以上、好ましくは10分~24時間 抽出を行ない、必要に応じて攪拌等の補助的手段 を加えることにより抽出時間を短縮することがで きる。

洗浄する。クロロホルムの使用量は該溶液と当量 程度が適当である。クロロホルムによる洗浄によ つて該溶液中のカフエイン、葉緑素などが除かれ る。なお、色素質の除去が不十分である場合、少 量の活性炭で処理すること<u>により十分に除去する</u> ことができる。その後、抽出成分を有機溶媒に転

溶させるが、この操作は常法によつて行なえばよ い。なお、有機溶媒としては種々のものを使用し 得るが、本発明者が行なつた実験では酢酸エチ

ル、ロープタノール、メチルイソプチルケトン、 アセトンなどが好適であり、特に酢酸エチル、ア セトン (塩析) が好ましい。有効成分を転溶させ た後、滅圧蒸留によつて有機溶媒を留去する。し 5 かる後、得られた濃縮液をそのまま、あるいは該 機縮液を凍結乾燥法、噴霧乾燥法などによって乾 燥したのち、逆相分配カラムを用いアセトン:テ トラヒドロフラン:水=0~25:0~35:65~85 (容量%)なる展開溶媒にて高速液体クロマトグ 10 ラフィーを行なう。この展開溶媒の好ましい範囲 はアセトン:テトラヒドロフラン:水=10~15: 5~15:75~80(容量%) である。

この高速液体クロマトグラフィーにより茶カテ キン類は上記一般式で表わされる4種類の物質に 15 分別され、各成分を分離して得ることができる。 すなわち、具体的に示すと、

(一) エピカテキン (R₁=H、R₂=H) (以 下、ECと略す。)

·(一) エピガロカテキン (Ri=OH、Rz=H)

(一) エピカテキンガレート (R,=H、

(一) エピガロカテキンガレート (R₁=OH、

次いで、抽出成分を含む溶液をクロロホルムで 35 の4種類である。これら各物質の紫外部吸収スペ クトルを第1図に、赤外部吸収スペクトルを第2 ~ 5 図に示す。これらは標品のものと相違ないこ とを確認した。これら各物質は、必要により濃 縮、乾燥して粉末化したり、さらには冷水より結 40 晶化して精製することができる。

> 本発明によつて得られる茶カテキン類はいずれ も水溶性であるが、少量のエタノールに予め溶解 させることにより容易に袖蹈等と混合させること ができる。

(3)

特公 平 2-22755

本発明は茶カテキン類の経済的かつ量産可能な 方法であり、しかも得られる茶カテキン類は強力 な酸化防止作用を有しており各種食品や化粧品、 石油製品などへの利用が期待されるほか、天然色 加抑制作用、抗突然変異作用、抗菌作用などの作 用を有しており、広範囲に及ぶ用途を有してい

次に、本発明を実施例等により評しく説明す る。

実施例 1

インスタント緑茶100分を熱温1000叫に加えて 完全に溶解させた。次に、同量のクロロホルムで 洗浄してカフエイン、色素類を除き抽出水溶液 1100mlを得た。これを同量の酢酸エチルで3回処 15 実施例2および比較例 理して抽出成分を転落した。酢酸エチル層を合併 して減圧濃縮し、さらに少量の水を加えて酢酸エ チルを留去して濃厚水溶液を得た。この濃厚水溶 液を常法により凍結乾燥して固形分(粗製品) であつた。

次に、この狙製品のうち3%を水20mlに溶解し 0.45μのミリボアフイルターにて沪遏した後、逆 相分配カラム(Waters社製、LC500A型、カート

6

リツジカラムCie)を用い、アセトン:テトラヒ ドロフラン: 木=12:10:78(容量%) を展開溶 媒として高速液体クロマトグラフィーを行ない各 カテキンを分買、分取した。各分画溶液を窒素気 素に対する退色防止作用、血中コレステロール増 5 旅中で減圧機縮し、得られた機厚水溶液を凍結乾 燥した。租製品39を用いたこの処理を合計4回 繰返して行ない、祖製品12gよりEC0.85g、 EGCL449、EC91249およびEGCR4879、合 計8.40分のカテキン類を得た。この値はタンニン 10 公定分析法によるタンニン (カテキン類) 純度72 %にほぼ合致する。

> かくして得られたカテキン類を少量の冷水より 再結晶を繰返し、減圧乾燥して各カテキンの白色 針状結晶を得た。

実施例1において高速液体クロマトグラフィー の展開溶媒の組成を変化させた場合における各カ テキン類のそれぞれのピークの分離限界について 分析用液体クロマトグラフ装置(島津製作所、示 28.9 f を得た。固形分中中のタンニン純度は72% 20 差屈折計検出器RID-2AS) を用いて検討した。 結果を第1表に示す。なお、表中の数値はピーク の保持時間(分)を示し、數値間の一はピークが 重なることを示している。

1

| 7th> (%) | | (|) | | 5 | | | 1 | 10 | |
|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| タンニン *THF(%) | ECO | EC | BCCg | ECE | ECC) | EC. | ECCE | ECg | EC20 | EC |
| 0 | | | | | | | | | 10.4 | 24.0 |
| 5 | | | | | 10.2 | 21.9 | 50,8 | 80 | 6,6 | 12,6 |
| 10 | 11.5 | 22.8 | 71.1 | 8 | 6,8 | 12,3 | 27.6 | 71.0 | 4,7 | 7.6 |
| 15 | 7.2 | 12,7 | 32.0 | 75.0 | 5.2 | 8.1 | 15.4 | 32.0 | 4,1 | 5.9 |
| 20 | 6. 1 | 9.6 | 22.7 | 43_0 | 4.3 | 6,0 | 9.6 | 16,5 | 3,6 | 4.8 |
| 25 | 4,8 | 6,8 | 12,5 | 19.7 | 3,7 | 4.8 | 6,8 | 9,9 | 3,3 | 4.0 |
| 30 | 4, 1 | 5, 4 | 8,4 | 11.8 | 3,3 | 4,1 | 5.1 | 6.7 | 2,6 | -2, 8 |
| 35 | 3,6 | 4.4 | 5.9 | 7.5 | 2.7 | -2.9 | -3.2 | -3.5 | | |
| 40 | 3.0 | -3.4 | 4.1 | -4.7 | | , | | | | |

(4)

特公 平 2-22755

7

8

| アセトン タ (%) | 1 | 0 | | 1 | .5 | | | 2 | 20 | |
|----------------|-------|-------|------|------|-------|------|------|-----|------|------|
| ★THF(%) | ECCE | ECg | ECCO | EC | EOCg | ECg | ECO | EC | ECCE | ECg |
| 0 | 36,4 | 127.0 | 6, 1 | 12,0 | 16, 2 | 50.0 | 4,2 | 7.0 | 8,6 | 21.1 |
| 5 | 24.5 | 69,2 | 4,5 | 7.4 | 12.0 | 27.2 | 3, 4 | 5.0 | 6,3 | 11.5 |
| 10 | 12.8 | 28,4 | 3,7 | 5, 2 | 7.1 | 13,0 | 3, 2 | 4.1 | 5.1 | 7.9 |
| 15 | 8.9 | 16.4 | 3,5 | 4.8 | 5.9 | 9.3 | 2.9 | 3,5 | 4,2 | 5, 6 |
| 20 | 6,2 | 9,2 | 3,0 | 3,7 | 4.5 | 6.0 | 2,5 | 2,9 | -2,9 | -3.2 |
| 25 | 4,9 | 6,5 | 2.5 | -2.8 | -3.0 | -3.4 | | | | |
| 30 | -3, 1 | -3,5 | | | | | | | | |
| 35 | | | | | | | | | | |
| 40 | | | | | | | | | | |

| 7th> (%) | | 2 | 25 | | | 30 | | |
|----------|-----|-----|-----------|------|-----|-----|------|-----|
| *THF(%) | ECO | EC | ECCg | ECg | ECO | EC | ECCg | ECg |
| 0 | 3.2 | 4.8 | 5,5 | 10,6 | 29 | 3.9 | -4.1 | 6.5 |
| 5 | 3.0 | 3.9 | 4.4 | 6.9 | | | | |
| 10 | 2,9 | 3.6 | 4.1 | 5,7 | | | | |
| 15 | 2.5 | 2,8 | -2.8 | -3.2 | | | | |
| 20 | | | | | | | | |
| 25 | | | | | | | | |
| 30 | | | | | | | | |
| 35 | | | | | | | | |
| - 40 | | | | | | | | |

★THF:テトラヒドロフラン

実施例 3

放茶100gを50%エタノール水溶液1000ml中で10分間機拌しながら抽出を行なつた後、炉過により茶葉を除いて約1000mlの炉液を得た。この溶液に同量のクロロホルムを加え撹拌してカフエイ 40ン、色素類をクロロホルムーエタノール層中に移し、水ーエタノール層を同量の酢酸エチルで3回処理し、酢酸エチル層を合併して減圧機縮し、次いで少量

の水を加えて酢酸エチルを留去し濃厚水溶液を得た。この濃厚水溶液を凍結乾燥して固形分(粗製品)11.9gを得た。固形分中のタンニン純度は72%であった。

9 得られた租製品について実施例1と同様にして 各カテキン類に分画し、再結晶してそれぞれの結 晶を得た。

実施例 4

茶生葉200gを蒸煮し酵素を失活させたものを

(5)

特公 平 2-22755

Q

70%メタノール水溶液1000mlと共にミキサー中で10分間握拌、粉砕したのち遠心分離を行なつて上清液770mlを得た。この溶液を同量のクロロホルムで洗いカフエイン、色素類をクロロホルムーメタノール層中に移し、水ーメタノール層690mlを5・得た。この水ーメタノール層を同量の酢酸エチルで3回処理したのち酢酸エチル層を合併し、減圧機縮した。次いで、これに少量の水を加えて酢酸エチルを留去し濃厚水溶液となし、しかる後常法により凍結乾燥して固形分(粗製品)7.6gを得10た。この固形分中のタンニン純度は51%であった。

得られた粗製品について実施例1と同様にして 各カテキン類に分画し、再結晶してそれぞれの結 晶を得た。

応用例 1

ラードに対する抗酸化試験

本発明の方法により得た茶カテキン類のラード (酸化防止剤未添加) に対する抗酸化試験 (AOM法による) を行なつた。試験結果を市販 20のdーαートコフェロールおよびプチルヒドロキシアニソール (以下、「BHA」と略配する。) についての結果と共に第6図に示す。図から明らかな如く、dlーαートコフェロール200ppmあるいは BHA50ppm に 匹 敵 する 抗酸 化能は 25 ECC10ppm、ECg50ppm、ECG # 20ppmおよび EC50ppmで得られる。これらカテキン類を食品に使用する場合、最終食品中の濃度が100ppm以下であれば、食品の呈味、呈色を阻害することはない。 30

次に、カテキン類中の主成分であるECCgのラード(酸化防止剤未添加)に対する抗酸化能における他物質との相乗効果について第2~4表に示した。通常のAOM試験(97.8℃)においてはEGCglOppmに対してリンゴ酸、クエン酸、西石 35酸の各50ppm添加が著効を示し(第2表)、60℃に保持したAOM試験変法ではEGC f 5ppmに対してレーアスコルピン酸、クエン酸、リンゴ酸の各50ppm添加によりPOVが20に連する日数においてEGCg5ppm単独より長い(第3表)。さら 40に、通常のAOM試験(97.8℃)に市販のトコフエロールMIXと組合せて用いた場合、EGC f 5ppmとトコフエロールMIX100ppmの組合せはトコフエロールMIXを単独で200ppm用いた場合

よりもはるかに酸化防止能がすぐれている (第4 表)。

10

| | <u>第</u> 2 | 表 |
|----------|------------|------------------------|
| ECCE(FE) | 有機酸(pa) | 20時間後のPOV* (meq/kg) |
| 10 | - | 186 |
| 10 | リンゴ酸50 | 32 |
| 10 | クエン酸50 | 21 |
| 10 | 酒石酸50 | 25 |
| ≭ POV | :過酸化物值 | |

3

| | PW0~(~~) | - Andrews St. (| • | POVが20に達するまでの日数 |
|----|----------|-----------------|---|-----------------|
| | ECCg(Ha) | 有機酸() | <u>•) </u> | (B) |
| 15 | _ | _ | 7, 1 | |
| 13 | 5 | _ | | 12, 1 |
| | _ | しアスコルビ | ン酸50 | 10.9 |
| | 5 | " | 5 | 13.7 |
| | 5 | " | 50 | 16.9 |
| 20 | 5 | クエン酸 | 50 | 13.8 |
| zu | 5 | リンゴ酸 | 50 | 14,1 |
| | | <u>96</u> 4 | . 表 | |

| | | A' 1 00 | |
|---|----------|--------------------|-----------------------------|
| - | ECCg(pp) | トコフエロール MIX(gm) | POVが20 に逸す るまでの日数 (日) |
| 5 | - | _ | 8.0 |
| | 5 | _ | 14,8 |
| | 5 | 100 | 29.0 |
| | - | 200 | 20.0 |
| | | | |

30 応用例 2

天然着色料の退色防止試験

 クチナシ色素(水溶性カロチノイド系)の Mclivaine's Buffer(PH 3.28) 溶液(OD₄₄₁ = 0.863)を作成した後、EGCg100ppm 添加、 1000ppm添加および無添加の3種類の試験液を 調製した。

各試験液をUVカットのない透明な試験管(今1.8×18cm)に分注し、15W螢光灯照射下20cmの位置に置いて経時変化を観察した。まず、照射前に各試験液の最大吸収波長(λmax)を測定しておき、照射後経時的にλmaxにおける吸光度を測定し、照射前の吸光度を100としたときの計算値を残存率(%)として第7a図に示した。

(6)

特公 平 2-22755

11

(2) β-カロチンの6.25ppmメチルイソプチルケ トン溶液を作成し、これにEGCg100ppm添加、 1000ppm添加および無添加の3種類の試験液を 調製した。

15W紫外線灯(365nm)照射下20cmの位置に置 を経時変化を観察した。結果を第7b図に示し た。

- (3) ペニハナ色素 (フラボノイド カルコン系) のMclivaine's Buffer(PH3.28) 溶液 (OD.s.o = 10 官能的な酸化臭も明瞭に抑えられている。 1.172) を作成した後、EGCg100ppm添加、 1000ppm添加および無添加の3種類の試験液を 鎖製し、この試験被について上記(2)と同じく 15W螢光灯および15W紫外線灯照射下における 経時変化を観察した。結果を第7 c 図に示す。
- (4) コチニール色素 (アントラキノン系) の15% プロピレングリコール含有Mcllvaine's Buffer (pH3.28) 溶液 (OD492=1.408) を作成し、こ れにEGCg100ppm添加、1000ppm添加および 液について上記(2)と同様にして経時変化を観察 した。結果を第7d図に示す。
- (5) 紅麵菌色素 (アザフイロン系) の15%プロビ レングリコール含有McIlvain's Buffer(型 と同様にして経時変化を観察した。結果を第7 e図に示す。
- (6) 天然クロロフイル(グリセリン脂肪酸エステ ルを加えて水溶性タイプにしたもの)の15%プ 作成し、上記(4)と同様にして試験液を調整した のち同じ条件で経時変化を観察した。結果を第 7 f 図に示す。
- (7) リボフラビン0.02%水溶液について上記(1)と 電球下20cmの位置に置き経時変化を観察した。 結果を第7g図に示す。

応用例 3

レモンオイルの主成分D~リモネンの抗酸化試 驗

Dーリモネンの経時変化に対するEGCgの防止 効果を第8図に示す。(ガスクロマトグラフィー 条件:島津ガスクロマトグラフGC-8A使用、担

体クロモソルブW(AW)(60~80メツシユ)に担 持した5%ポリエチレングリコール6000を充填し たカラム (43m×2m) を用い、サンプル0.2山 を打込み、毎分 4℃で45℃から200℃まで昇温) 各試験液を上記(1)と同様に15W螢光灯および 5 図から明らかなように、Dーリモネンを60℃で31 日間保持した場合、多くの経時変化生成物のビー クを現出させるが、EGCgを100~1000ppm添加 した場合は、Dーリモネンの4℃、31日間保持の 場合のピークと大差がなく、レモンフレーパーの

12

応用例 4

魚類の変敗臭の主体たるトリメチルアミン(以 下、「TMA」と略記する。) に対するEGCg等の 抑臭効果を第9図に示す。すなわち、1×10⁻⁻モ 15 ルTMA20mlを100ml容の三角フラスコに密閉し、 カテキン試料各20gを添加、攪拌し22.5時間経過 後、フラスコのヘッドスペース2叫を採取し、担 体ダイアソリッドL(60~80メッシュ) に担持し た15%シリコンDC550を充填したカラム(¢3 ma 無添加の3種類の試験液を調製した。この試験 20 × 2 m)を用いてガスクロマトグラフィーを行な い、ピークを測定した。

応用例 5

Wister系ラット (3 週令雄) 24匹を 4 群に分 け、第1群に蛋白顔としてカゼインを25%含むカ 328) 溶液(OD412=0.870)を作成し、上配(4) 25 ゼイン標準食、第2群に高コレステロール発症食 (カゼイン標準食に砂糖15%、ラード15%、コレ ステロール1%およびナトリウムコレート0.2% を加えたもの)、第3群には第2群の飼料に EGCg0.5%添加したもの、第4群には第2群の飼 ロピレングリコール水溶液 (ODess=0.356) を 30 料にEGCg1%添加したものを与えて各群を飼育 し、4週間後に12時間飢餓後、心蔵採血して血漿 中のコレステロール量その他を測定した。結果を 第5表に示す。

表から明らかなように、EGCg投与群において 同様に試験液を作り、3種類の試験液を100W 35 は締コレステロール量の上昇が著しく抑制され、 特に第4群では第1群と有意差のない (p= 0.05) レベルまで総コレステロール量の増加が抑 えられた。

> また、肝臓中の総脂質量および総コレステロー 40 ル量を測定した結果を第6度に示す。表から明ら かなように、EGCg投与群においては肝臓中の総 脂質量と総コレステロール量の増加が抑制されて

(7)

特公 平 2-22755

13

14

| 第 | 5 | 表 |
|---|---|---|
| | | |

| | 第1群 | 第2群 | 第3群 | 第4群 |
|--------------------------------|---------------|-------------------------|-------------------------|--------------|
| ヘマトクリック (%) | 46.5±1.6 | 44.6±1.0 | 43,9±0.8 | 42,7±0.6 |
| へモグロビン (g/dl) | 14,65±0,19 | 13.23±0.10 | 13,47±0,14 | 13, 24±0, 18 |
| 総コレステロール(双/dl) | 93,38±4,89° | 223,65±14,26° | 142.78±4.77° | 114,32±8,58° |
| 遊離コレステロール (mg/dl) | 26,69±1.29 | 39,67±1,72 | 28,23±1,47 | 22.57±1.29 |
| 総コレステロールー遊離コ レステロール (mg/dl) | 66.68±3.73 | 183.98±13.26 | 114,55±4,20 | 91.75±7.50 |
| IDL-コレステロール (mg/dl) | 53,46±2,94 | 21.56±1.45 | 31,06±1.45 | 29.70±1.07 |
| LDL-コレステロール (ng/dl) | 11.30±0.81 | 163.77±10.52 | 85.27±4,60 | 53.94±4.83 |
| トリグリセライド(100/41) | 162,72±7,13** | 92.08±8.01 ^b | 74.12±6.05 ^b | 71.89±8.87*) |

a) b) c)はp=0.05における有瀬斧表示

| | 第 | | |
|-----|--------------|--------------------------|-------------|
| 群 | 総脂質(%) | 総コレステロール (mg/g・liver) | Fret重量(g) |
| 第1群 | 5, 20±0, 13 | 4,83±0,11 | 7,50±0,28° |
| 第2群 | 32.95±0.69° | 106±3*, | 11.91±0.47° |
| 第3群 | 28,73±0,8169 | 84±2 ^b) | 12.76±0.46* |
| 第4群 | 23.99±0.57° | 71±3°' | 10,61±0,17° |

a) b) c)はp=0.05における有意差表示

応用例 6

パチルス・ズブチリス (Bacillus subtilis) NIC 1125(his., met.mut-1) を用いECCgの 自然復帰突然変異の抑制作用を調べた。すなわ ち、パチルス・ズブチリス NIG 1125 を Pen 30 然変異頻度 F を求めた。 assay brothで30℃で1晩振とう培養し、得られ*

*た樹体(生菌数1~3×10 cells/xl)の0.1 xlを 所定濃度のEGCgを含有する半栄養培地に散布 し、30℃にて48時間培養した。培養後、復帰変異 コロニー数をカウントし、下記の式により復帰突

F = ある適度のEGCg含有時の復帰変異コロニー数 ある濃度のEGCg含有時の生菌数

第10図はヒスチジン要求性からヒスチジン非 は生菌数に影響を及ぼさない健度で復帰突然変異 頻度を顕著に抑制したことが判る。

第11図はメチオニン要求性からメチオニン非 要求性への復帰変異を調べたものであり、ヒスチ ジンの場合と同様の結果が観察された。

パチルス・ズブチリスNIG 1125(his, met. mut-1) はDNAポリメラーゼ間温度感受性株 であり、高頻度に自然突然変異を起こす。したが つて、上記のようなEGCgの抗突然変異作用は

DNAポリメラーゼ皿の働く場に作用してその対 要求性への復帰変異を調べたものであり、EGCg 35 合の誤まりを少なくし、忠実度を上げているもの と考えられる。DNAポリメラーゼ目は染色体複 製に関与する重要な酵素の1つであるから、 EGCgと眩酵素への作用は制癌や老化防止等との 関連からも興味深いものである。

40 応用例 7

EGCおよびEGCgの微生物に対する発育阻止の 最低濃度(MIC)を源定し、その結果を第7表 に示した。

表から明らかな如く、EGCおよびEGCgは細菌

(8)

特公 平 2-22755

15

類の培地に対し200~500ppmの添加で殺菌効果を 示し、食品防腐剤としての利用が期待される。な お、酵母類に対しては明確な抗菌作用は認められ なかつた。

MICの試験は、細菌については市販Nutrient 5 broth89、寒天159を水1000型に加えた培地 (PH 7.2) を、酵母についてはポテト・デキストロー ス寒天40 f を整留水1000x1に加えた培地(HI5.0 ~6.0) を基本培地とし、その20点を含むシャー レにEGCまたはEGCgを細菌は 1~500ppm濃度 10 で13段階、酵母は5~800ppm濃度で12段階とな るように添加し、各蘊度のものを2枚ずつ用意 し、1枚につき細菌は8菌株を、酵母は5菌株を 放射線状に接種し、常法により培養してMICを 求めた。

麦

| | ECC (Nm) | ECCg (pm) | |
|--|-------------|--------------|----|
| スタフイロコツカス・アウレウスIAMI011 (Staphylococcus aureus) | 300 | 200 | 20 |
| エシェリヒア・コリIAM12119 (Escherichia coli) | 300 | 500 | |
| パチルス・スプチリスIAM12118 (<u>Bacillus subtilis</u>) | >500 | >500 | |
| シュードモナス・エルギノーサ IAN1054 (Pseudomonas aerginosa) | 200 | 500 | 25 |
| シュードモナス・フルオレツセンスIANI2022 (Pseudoponas fluorescens) | 200 | 500 | |
| セラチア・マルセツセンス IAMI 104 (Serratia marcescens) | 500 | >500 | 30 |
| プロテウス・ブルガリス IAM1025 (<u>Proteus</u> vulgaris) | 200 | 200 | |
| エンテロパクター・エアロゲネ スIAM1183 (<u>Enterobacter</u> <u>aerogenes</u>) | 200 | 300 | 35 |

ECC (PE) BCCg (pm) サツカロミセス・セレビシエ >800 AN4274 サツカロミセス・ロキシ 11 Đ IAN4962

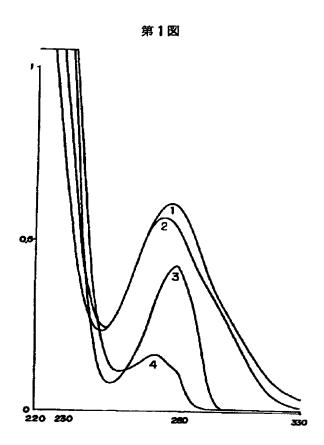
16

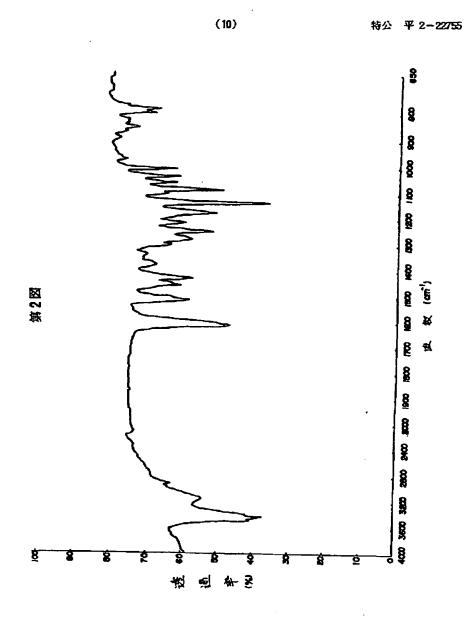
>800 (Saccharonyces cerevisiae) (Saccharomyces rouxii) ピヒア・メンプラナエフアシェ 11 ZÍAM491Ĭ (Pichia membranaefaciens) 、ンゼヌラ・アノマラJAN4967 " (Hansenula anomala) シゾサッカロミセス・ポンペ // ij ĮAH4779 (Schizosaccharomyces pombe)

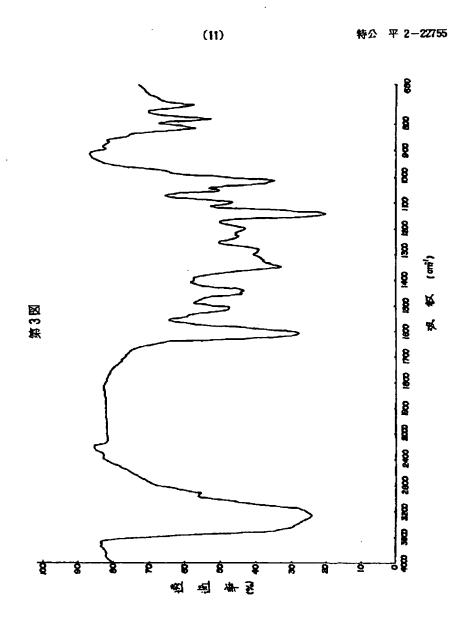
15 図面の簡単な説明

第1図は本発明により得られるカテキン類の紫 外線吸収スペクトルであり、1はECg(λmz 276nra), 2 /dEGCg(λmax 273nm), 3 /dEC(λmax 278nm)、4はEGC(λmx269nm) を示す。第2図 20 はECの赤外線吸収スペクトル、第3図はEGCの 赤外線吸収スペクトル、第4図はEGCgの赤外線 吸収スペクトル、第5図はECgの赤外線吸収スペ クトルを示す。第6図はラードに対する各種物質 の抗酸化試験の結果を示すグラフ、第7図a~g 25 はEGCgの色素に対する退色防止試験の結果を示 すグラフ、第B図はDーリモネンの経時変化に対 するEGCgの防止効果を示すグラフ、第9図はト リメチルアミンに対するEGCgの抑臭効果を示す グラフ、第10図および第11図は微生物の栄養 30 要求性の復帰変異を示すグラフである。

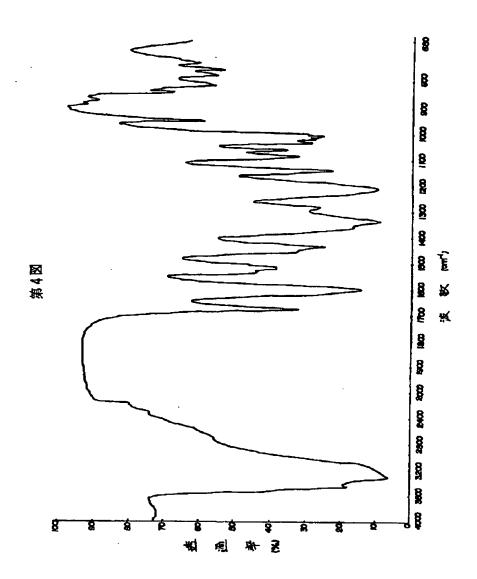
(9)

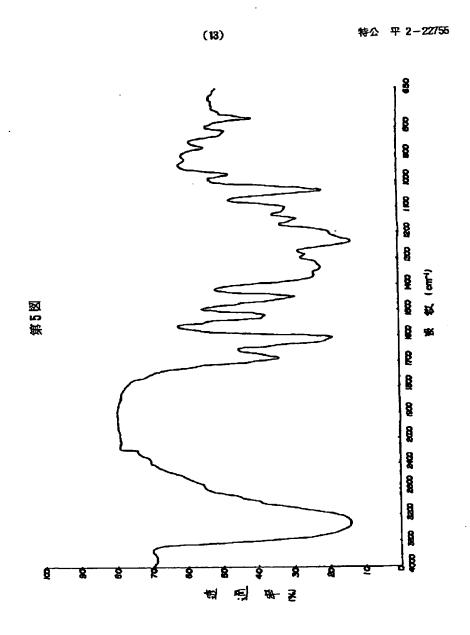


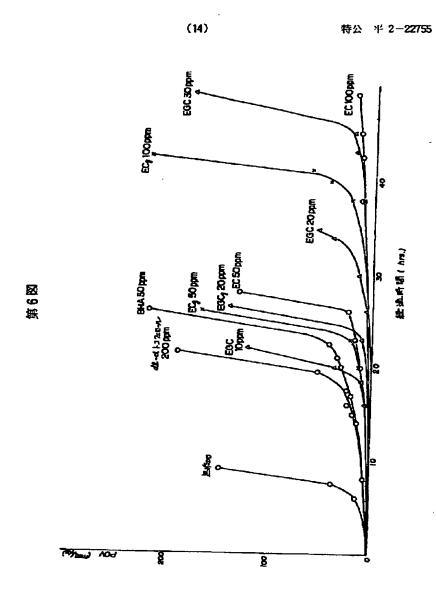




(12)

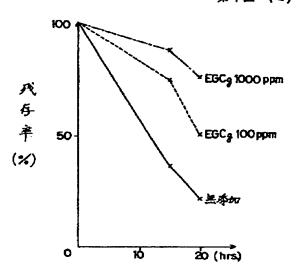


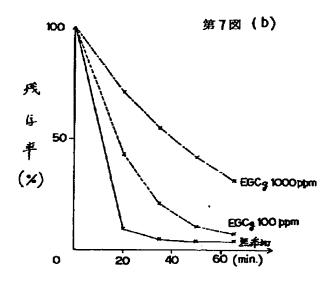




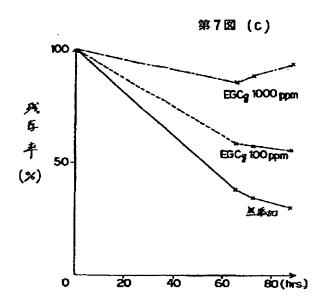
(15)

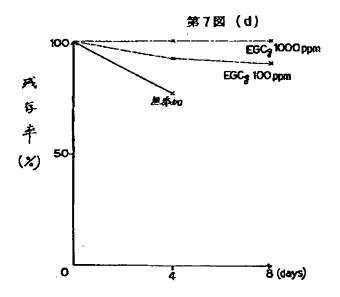
第7図 (a)



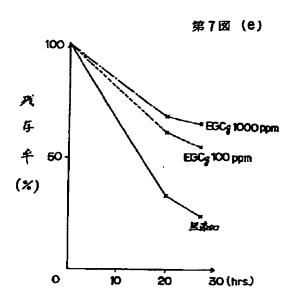


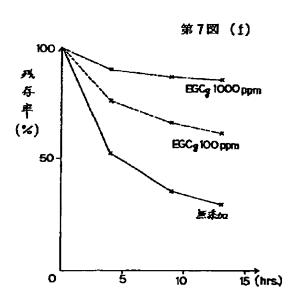
(16)





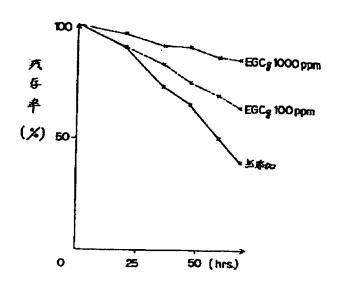


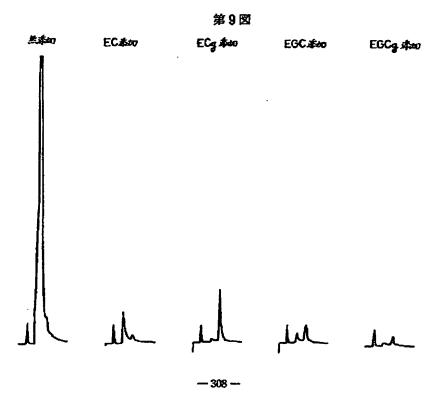


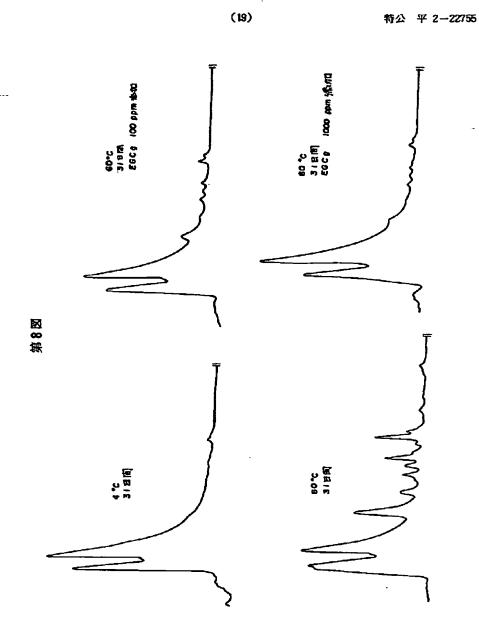


(18)

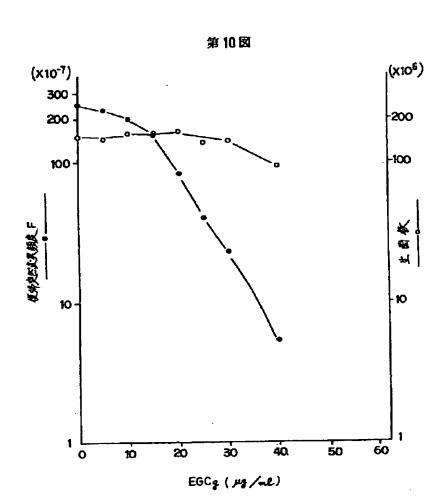
第7図 (8)







(20)



(21)

特公 平 2-22755

第11 図

